

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑭ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—130820

⑮ Int. Cl.³
A 61 K 37/30
9/00

識別記号

庁内整理番号
7138—4C
7057—4C

⑯ 公開 昭和59年(1984)7月27日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 7 頁)

⑰ 表面活性剤含有組成物による鼻内部へのカル
シトニン吸収の促進

⑱ 特 願 昭58—244931

⑲ 出 願 昭58(1983)12月27日

優先権主張 ⑳ 1982年12月29日㉑ 米国(US)
㉒ 454128㉓ 発 明 者 ダニエル・マウソン
アメリカ合衆国ニューヨーク州
シールズ・ヒルサイド・ドライ
ブ24㉔ 発 明 者 マセツタ・エイ・ハンソン
アメリカ合衆国ニューヨーク州
タツカホーコンスレート・ドラ
イブ1㉕ 出 願 人 アーマー・フアーマシユーティ
カル・カンパニー
アメリカ合衆国ニューヨーク州
テリータウン・サウス・ブロー
ドウェイ303

㉖ 代 理 人 弁理士 川瀬良治 外1名

明 細 書

1. [発 明 の 名 称]

表面活性剤含有組成物による鼻内部へのカルシトニン
吸収の促進

2. [特 許 請 求 の 範 囲]

1. カルシトニンの治療有効量と表面活性剤を含む鼻内部
投与に適する水性又は非水性媒質より成ることを特徴と
する骨代謝作用の病気治療用製薬組成物。2. 更に緩衝剤を含む特許請求の範囲第1項に記載の製薬
組成物。3. 上記緩衝剤が0.01乃至0.5M濃度である特許請求の
範囲第2項に記載の組成物。4. 更に酸化防止剤、安定剤、強直性調節剤、粘性賦与剤
又は保存剤を含む特許請求の範囲第1項から3項迄のい
づれかに記載の組成物。5. 上記媒質がそのミリリットル当たり約5乃至約150μg
のカルシトニンを含む特許請求の範囲第1項から4項ま
でのいづれかに記載の組成物。6. 約0.01乃至約10%w/vの表面活性剤を含む特許請
求の範囲第1項から5項までのいづれかに記載の組成物。7. 上記緩衝剤がりん酸塩緩衝剤である特許請求の範囲第
2項に記載の組成物。8. 上記緩衝剤が酢酸塩緩衝剤である特許請求の範囲第2
項に記載の組成物。9. 上記水性媒質がゲルである特許請求の範囲第1項から
8項までのいづれかに記載の組成物。10. 上記表面活性剤がジカルボキシル化脂肪性イミダゾリ
ン又は ナトリウム タウロコレイト又はベンザルコニウ
ム クロライド である特許請求の範囲第1項から9項ま
でのいづれかに記載の組成物。

3. [発明の詳細な説明]

本発明はカルシトニンを患者に投与する新方法および鼻に投与するに適する調合物に関する。

カルシトニンは人や豚などのちがつた種類のちがつた組織から分離された又は合成によつてえられたポリペプチドホルモンである。カルシトニンは上皮小体機能亢進症、幼時特発過カルシウム血症、ビタミンD中毒、および骨軟化骨転移をもつ患者の過カルシウム血症の軽減と血漿りん酸塩濃度の減少に有効と認められている。直接腎臓効果と胃腸管への作用が認められているがカルシトニンの骨に対する効果が最もよく知られている。その使用は例えばパージェット病におこる様な骨格吸収増加や骨異常生成を特徴とする病気に有効とわかっている。

カルシトニンの投与は主として注射によるが、従来は特に局部治療のために他の投与法が使われていた。医師によ

ブプロラノールの様な小分子は鼻内部に有効に吸収されるが、カルシトニンの様な大分子は殆んど吸収されない。本発明の目的は治療費が適当となる様カルシトニンの生物有効度を増加できる薬剤の発見にある。従来技術は鼻用調合物中に表面活性剤を使用することによつてある薬剤が鼻に吸収されることが認められている。例えばインシュリンやポリペプチドは表面活性剤含有液中で使えば吸収速度がよくなると発見されている。

今や過カルシウム血症、パージェット病および骨代謝作用の他の病気が本質的成分として吸収助剤又は緩衝剤を含む鼻用調合物中に含むカルシトニンの鼻内部への応用によつて便利に治療できることが発見されたのである。これらの調合物は鼻内部に應用すると粘膜をとおしてよく吸収されるが長期間使用にも刺激又は不快感をおこさない。

本発明はカルシトニン活性をもつペプチドと上記病気を

るカルシトニンの注射投与は短期治療には当然であるが、長期間カルシトニン治療を要する患者へのカルシトニン注射投与は重大問題がある。医師が長期間カルシトニン投与をすることは患者に経費がかかるだけでなく苦痛であり不便である。カルシトニンは胃腸管内で消化液によつて破壊されるので患者に経口投与もできない。

前記のことを考えれば必要な長期カルシトニン治療条件に耐える患者へのちがつたカルシトニン投与法に対して強い要望があることは明らかである。

従来鼻用調合物は知られている。一般に鼻用調合物は水中油又は油中水乳濁液又は鉱物又は植物油の様な粘膜に使用するに適した油性溶媒基本物質およびそれに可溶性の1又は2以上の化学薬品より成る。この調合物は普通鼻の粘膜をとおして血液流に吸収され病状を緩和する目的の活性薬剤1又は2を含む。

トランスエフィリセリアル (transephlithelial) な作用によつて調節する吸収助剤を含む鼻用調合物の鼻内部へ応用することより成る高血清カルシウムを特徴とする病気にかかっている哺乳動物の治療法に関する。

本発明によればカルシトニンは溶液、軟膏又はゲルの様な新規の投薬形によつて哺乳動物に投与される。

カルシトニンは分子のアミノ末端基に1-7において2サルファイド結合をもつ32アミノ酸のペプチドホルモンである。これらの2サルファイド結合をもつ第17アミノ酸は活性には重要と思われこの結果は種から種に保存される。本明細書で使うカルシトニンは自然にあるホルモンの1秒に対応する構造をもち自然に又は合成的に生成されるペプチドのみならずカルシトニン活性をもつ関連ペプチドをも意味する。

本発明の調合物中のカルシトニンの量は製法、使用カル

シトニンの特定種又は活性および調合物によつて治療される状態又は病気の様な種々の要素によつて変る。一般にその濃度はカルシトニンの全身投与用組成物における濃度より幾分高い。濃度1乃至150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、好ましくは2乃至30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ によつてよい結果がえられることがわかつてゐる。カルシトニンの投与量も全身的投与の場合と少し変る。人間患者の場合例えば0.7乃至70 μg 、特に1乃至25 μg が普通1回投与に相当であり医師が必要量として反復され、この投薬量は体重キログラム当たり一般に約0.01乃至1 μg 、特に0.03乃至0.35 μg に相当する(上記カルシトニンの濃度と投薬量は約4000国際単位/mgの効力をもつカルシトニンに適用され他の効力をもつカルシトニンについては比例調節できる)。

本発明により使われる稀釈液又は賦形剤は水性でも非水性でもよい。非水性の場合稀釈剤群は生理学的に許容され

低く保たれる。この表面活性剤には次のものがある：

- a. ナトリウム タウロコレイト、ナトリウム コレイト、ナトリウム デオキシコレイトおよびナトリウム グリコレイトの様な胆汁塩；
- b. エチレンオキサイド および 第4級アンモニウム化合物との長鎖アミン縮合物の様な陽イオン剤、例えばセチルトリメチルアンモニウムブロマイドおよびドデシルジメチルアンモニウムブロマイド；
- c. アルキルベンゼンスルフォネイト、N-アシル-n-アルキルタウレイト、 α -オレフィンスルフォネイト、硫酸化脂肪第1アルコールおよび硫酸化ポリオキシエチレン化直鎖アルコールの様な陰イオン剤；
- d. ポリオキシエチレン化アルキルフェノール、ポリオキシエチレン化直鎖アルコール、天然脂肪酸のグリセロールエステルを含む長鎖カルボン酸エステル、プロピレング

る極性溶媒である。この形の好ましい化合物は適当な濃度のカルシトニン溶液をつくりうる様な化合物である。この化合物の例にはジメチルスルフォキシド、ジメチルホルマミド、ジメチルラウラミド、ポリヒドロキシアルコール、植物油および鉱油がある。必要ならばこの非水性媒質は水と混合して調合物の稀釈液を生成できる。しかし非水性稀釈剤の生理学的許容度は一般に水性媒質のそれより小さいので、好ましい稀釈剤は有機溶媒を加えない水である。

本発明の製法においてカルシトニンは吸収助剤と混合して使われる。この吸収助剤には生理学的に許容される表面活性剤がある。この活性剤の量は使用する特定表面活性剤によるが約0.01乃至約10% w/v 、又はそれ以上、好ましくは約0.05乃至約1.0% w/v でよい。この量のある程度以上では吸収の増加はえられないしまた表面活性剤濃度が高すぎると鼻粘膜を刺激するので、量は一般にできるだけ

リコール、ソルビトールおよびポリオキシエチレン化ソルビトール エステル の様な非イオン剤；

e. イミダゾリン カルボキシルレイト、スルフォネイト等の様な両性剤；および

f. ホスホチジル コリン等の様なホスホリビッド。

本発明の調合物は0.01乃至0.5 M、好ましくは0.05 M乃至0.2 Mの範囲のりん酸塩又は酢酸塩緩衝剤を含むとよい。この濃度は稀釈液又は賦形剤中にとけたカルシトニンの安定を保つに有効と知られている。

本発明の調合剤は他の添加物、例えば酸化防止剤、安定剤、強直性調節剤、粘性賦与剤、保存剤等を加えてもよい。これらの添加物濃度は使用特定添加物と望む結果によつて変る。一般にこれら添加物濃度は次の範囲内である：

添 加 剤	% w/v
酸化防止剤	0.01 — 0.2
安定剤	0.01 — 2.0
強直性調節剤	0.01 — 0.5
粘性賦与剤	0.1 — 2.0
保存剤	0.001 — 2.0

添加剤の種類と濃度の使用は熟練者の能力範囲内であるが、同様の目的の調剤中に一般に使われる2種添加剤の例として次の数に役に立つであろう：

保 存 剤	% w/v
ベンザルコニウム クロライド	0.004 — 0.02
ジナトリウム エチレンジアミン テトラアセテイト	0.01 — 0.2
シメロサル	0.001 — 0.01
クロロブタノール	0.5 — 1.0
メチルおよび(又は) プロピル パラベン	0.01 — 0.2
フェネチルアルコール	0.25 — 0.75
シクロヘキセジン	0.01 — 0.1

粘 度 剤	% w/v
メチルセルロース	0.1 — 2.0
ヒドロキシエチル セルロース	0.1 — 2.0
ヒドロキシプロピル セルロース	0.1 — 2.0
ポリビニルピロリドン	0.5 — 2.0

本発明の調合剤製造ではカルシトニンを賦形剤又は稀釈液にとかした後製薬工業で知られた一般調合法によつて添

加成分を加える。

代表的鼻内部用調合剤の例は下記のとおりである。しかしこの実施例は単に例証のためのものであつて、本発明の多くの修正法がこの技術分野の知識ある者には明らかであろうから、実施例によつて本発明が真意又は範囲のいづれにおいても限定されると解釈すべきではないのである。

実施例 1	% w/v
カルシトニン	0.009
ナトリウム タウロコレイト	0.5
ゼラチン	1.0
精製水を加えて	100 とする。

実施例 2	% w/v
カルシトニン	0.009
ミラノール C 2 M	1.0
ゼラチン	1.0
精製水を加えて	100 とする。

実施例 3	% w/v
カルシトニン	0.009
ミラノール C 2 M	0.05
酢酸ナトリウム-3 H ₂ O	1.36
酢酸	0.6
精製水を加えて	100 とする。

実施例 4	% w/v
カルシトニン	0.009
ポリソルベイト 80	1.0
酢酸ナトリウム、3 H ₂ O	1.36
酢酸	0.6
精製水を加えて	100 とする。

実施例 5	% w/v
カルシトニン	0.003
Brij 30	1.0
酢酸ナトリウム、3 H ₂ O	1.36
酢酸	0.6
精製水を加えて	100 とする。

実施例 6	% w/v
カルシトニン	0.009
MyrJ 59	1.0
酢酸ナトリウム	1.36
酢酸	0.6
精製水を加えて	100 とする。

実施例 7	% w/v
カルシトニン	0.009
ミラノール C2M	1.0
りん酸ナトリウム	2.40
くえん酸	0.34
チメラゾール	0.002
精製水を加えて	100 とする。

実施例 10	% w/v
カルシトニン	0.003
ミラノール C2M	1.0
りん酸ナトリウム	2.40
くえん酸	0.34
チメラゾール	0.002
精製水を加えて	100 とする。

上の融合剤に使うゼラチンは製薬用に製造された普通ペプチド用希釈剤として使われる標準ヒドロリット動物ゼラチンである。

本発明によりカルシトニンは吸収助剤を含む賦形薬と共に鼻内部に投与でき、吸収助剤を含まないカルシトニンの投与によつてえられる結果よりもかなりよい結果がえられる。

次の研究は本発明の融合剤中のカルシトニンの生物利用

実施例 8	% w/v
カルシトニン	0.009
ナトリウム タウロコレイト	0.5
酢酸ナトリウム・3H ₂ O	1.36
酢酸	0.6
ベンザルコニウム クロライド	0.01
ジナトリウム エチレンジアミン テトラアセテイト	0.1
精製水を加えて	100 とする。

実施例 9	% w/v
カルシトニン	0.009
ナトリウム タウロコレイト	0.5
酢酸ナトリウム・3H ₂ O	1.36
酢酸	1.36
クロロブタノール	0.1
フエネチルアルコール	0.2
精製水を加えて	100 とする。

度、カルシトニンの鼻吸収の吸収助剤濃度への依存度およびカルシトニンの吸収助剤存在における安定性を検べるために行なわれた。

工程成績表

体重150-250gの雄ねずみを秤りナトリウムベン
トバルビタール50mg/kgを腹腔内注射して麻酔した。一旦麻酔されたら鼻口蓋を膠で閉塞した。動物を5-7匹無
秩序に1群とし試験する鼻用融合剤数の群をつくつた。研
究中必要に応じて追加ベントバルビタール麻酔薬を投与し
た。

試験物質投与前に25G 5/8 インチ針を使つて心臓穿刺
により採血した。1ml注射器に連絡したポリエチレン管
(PE20、ニュージャージー州モンマウスジャンクショ
ン、ピーターソン テクニックス) を使つて純カルシトニ
ン含有表面活性剤溶液50μlを鼻中隔に滴注した。管は

約1cm鼻中隔中に挿入した。鼻滴注後1時間と3時間目に
心臓穿刺により再採血した。

生化学分析

血液試料を室温でかたまらせた後30-60分凍結させ
て最大凝血退縮をえた。試料を4℃で5000rpmにお
いて10分間遠心分離させた。(カリフォルニア州 パロ
アルトの ベックマン インストルメンツ の ベックマン型
J2-21)血清カルシウムをカルセット(メリーランド
州サドベリーのプレシジョン システムズ 4008型)を
用いて定量した。

データ分析

0、1および3時間血清カルシウム値を平均±標準偏差
値として表わした。また予処理値(0時間)からの1およ
び3時間における絶対変化および変化パーセントも計算し
た。統計分析は0と1時間、0と3時間および1と3時間

における血清カルシウム値をも試験を用いて比較した。

実施例 11

本実施例は、(a)カルシトニン単独投与；(b)カルシトニン
を種々の吸収助剤を含む調合物中に入れ投与；および(c)カ
ルシトニンを含まない調合物投与の場合の上記工程成績表
によりえられた血液試料中の血清カルシウム減少を示して
いる。表1でえた結果を示している。

表 1

カルシトニンU/100体重 賦形剤/薬面活性剤	服用後時間			
	0時間		1時間	
	mg/dl	mg/dl	減少量 mg/dl	減少率 %
2U1mg	8.8	9.5	なし	なし
5U1mg	8.5	7.9	7.1	9.5
10U1mg	9.2	7.6	17.4	9.7
10U 0.1Mアセテイト	8.8	6.3	28.4	9.0
1mg1%ミラノールC2M ⁽¹⁾	8.9	8.8	なし	なし
1mg1%タウロコレイト	9.1	9.5	なし	なし
3U 1mg1%ミラノールC2M ⁽¹⁾	8.9	6.7	24.7	7.6
	8.8	6.5	26.1	8.5
	8.7	6.8	21.8	8.9
3U 0.1Mアセテイト1% ミラノール C2M ⁽¹⁾	8.7	6.8	21.8	8.9
10U 1mg1%ミラノールC2M ⁽¹⁾	9.5	6.1	35.8	8.8
	9.1	7.5	17.6	6.6
	8.9	7.1	20.2	7.1
10U 0.1Mアセテイト 1%ミラノール C2M ⁽¹⁾	9.3	6.1	34.4	6.5
	9.2	6.8	26.1	8.4
3U 1mg1%タウロコレイト	9.1	7.0	23.1	6.4
10U 1mg1%タウロコレイト	9.3	7.1	23.7	6.3
	8.6	6.1	29.1	5.9
10U 0.1Mアセテイト 1%タウロコレイト	9.1	6.5	28.6	5.7
3U 1mg1%トウイーン80 (ポリソルベイト80)	8.3	6.2	25.3	8.7
	8.9	7.1	20.2	9.2
10U 1mg1%トウイーン80 (ポリソルベイト80)	8.7	6.6	24.2	7.3
	8.9	6.7	24.7	8.4

表I(つづき)

賦形剤/表面活性剤	0 時間	服用後時間			
		1 時間		3 時間	
		mg/dl	減少%	mg/dl	減少%
3 U 1%ゲル 0.5%	8.7	5.9	32.2	6.3	27.6
ベンザルコニウム クロライド	8.9	6.5	26.9	9.0	なし
10 U 1%ゲル 0.5%	8.5	7.2	15.3	7.9	7.1
ベンザルコニウム クロライド	9.0	6.0	33.3	6.2	31.0
3 U 1%ゲル 1%サポニン (サボギン グリコシド)	8.6	7.3	15.1	7.3	15.1
10 U 0.1アセタイト 1%NaL Saf	8.7	6.5	25.9	8.1	6.9
10 U 0.1アセタイト 1%Brij 30 (ポリオキシエチレン(4)ラウリル エーテル)	8.7	6.5	25.9	6.5	25.9
10 U 0.1Mアセタイト 1%Myrj 59 (ポリオキシエチレン(100)ステアレート)	8.5	6.2	27.1	8.4	1.2
10 U 0.1Mアセタイト 1%トウイーン80	8.7	7.5	13.8	7.1	18.4
10 U 0.1Mアセタイト 1%Aer OT (ナトリウム ジオクチル スルホスクシネイト)	9.1	6.6	27.5	7.6	16.5

註(1) ジカルボキシル化脂肪性イミダゾリン 又は

ジカルボキシル ココナツト 誘導体。

実施例 12

本実施例は調合物中の吸収助剤濃度による鼻内部吸収増

加を示すものである。

えられた結果を表IIに示している。

10Uカルシトニ ン/Kg体重 0.1 Mアセタイトの他 にタウロコレート	表 II					
	0 時間	1 時間		3 時間		
	mg/dl	mg/dl	%	mg/dl	%	
1 %	9.1	6.5	28.6	5.7	37.4	
0.5 %	9.0	6.1	32.2	7.5	16.6	
0.25 %	9.6	6.8	25.3	7.4	18.2	
0.1 %	8.9	6.5	27.0	8.3	6.7	
0.05 %	9.0	7.6	15.0	8.7	3.3	

表IIIに示した結果を示している。

1%ゲル中 10Uカルシトニ ンミラノールC2M混合	0 時間	1 時間		3 時間	
	mg/dl	mg/dl	%	mg/dl	%
初め	8.9	7.1	20.2	7.1	20.2
2週間室温	9.1	7.2	20.9	6.4	29.7
4週間 "	9.1	6.0	34.1	6.9	24.2
1%トウイーン80 (ポリソルベイト80)混合					
初め	8.9	6.7	24.7	8.4	5.6
2週間室温	8.8	6.7	23.9	8.3	6.0
4週間 "	8.8	6.3	28.4	6.7	23.9

実施例 13

本実施例は本発明の調合剤中のカルシトニンが室温貯蔵

においてその活性を保持することを示している。

特許出願人 アーサー ファーマシューティカル カンパニー

代理人 弁理士 川 津 良 治

" " 齊 藤 武 彦

19



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

11 Publication number:

0 115 627
A1

12

EUROPEAN PATENT APPLICATION

21 Application number: 83113070.3

51 Int. Cl.: **A 61 K 37/02**

22 Date of filing: 23.12.83

30 Priority: 29.12.82 US 454128

71 Applicant: **Armour Pharmaceutical Company, 303 South Broadway, Tarrytown New York 10591 (US)**

43 Date of publication of application: 15.08.84
 Bulletin 84/33

72 Inventor: **Mufson, Daniel, 24 Hillside Drive, Thieles, N.Y. (US)**
 Inventor: **Hanson, Musetta A., 1 Consulate Drive, Tuckhoe, N.Y. (US)**

84 Designated Contracting States: **AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE**

74 Representative: **Patentanwälte Grünecker, Dr. Kinkeldey, Dr. Stockmair, Dr. Schumann, Jakob, Dr. Bezd, Meister, Hilgers, Dr. Meyer-Plath, Maximilianstrasse 58, D-8000 München 22 (DE)**

54 **Enhancement of intranasal absorption of calcitonin by formulation with surfactants.**

57 A pharmaceutical composition for the treatment of disorders of bone metabolism which comprises an aqueous or non-aqueous medium suitable for intranasal administration and containing a therapeutically effective amount of calcitonin and a surface active agent.

EP 0 115 627 A1

0115627

-7-

1 ENHANCEMENT OF INTRANSAAL ABSORPTION OF
 CALCITONIN BY FORMULATION WITH SURFACTANTS

5 The present invention relates to a novel method of
administering calcitonin to patients and to formulations
adapted for nasal administration.

10 Calcitonin is a polypeptide hormone isolated from
different organs in different species, including man and
salmon, or obtained via synthetic routes. Calcitonin is
15 recognized as being effective in diminishing hypercalcemia
and decreasing plasma phosphate concentrations in patients
with hyperparathyroidism, idiopathic hypercalcemia of
infancy, vitamin D intoxication, and osteolytic bone
metastases. While direct renal effects and actions on the
15 gastrointestinal tract are recognized, calcitonin is best
known for its effect on bone. Its use has proved to be
effective in diseases characterized by increased skeletal
resorption and abnormal bone formation, such as occurs for
example, in Paget's disease.

20 The method of administration of calcitonin is
predominantly by injection, although efforts were made in the
prior art to use other modes of administration, especially
for the treatment of localized conditions. While injectable
administration by physicians of calcitonin is proper for
25 short-term therapy, administration of calcitonin by injection
to patients in need of long-term calcitonin therapy has a
serious problem. Not only is it costly to patients to have
physicians do the administration of calcitonin for extended
periods of time but it is also painful and inconvenient. Nor

30

35

0115627

1 can calcitonin be given orally to patients as it will be
destroyed by the digestive juices in the gastrointestinal
tract.

5 In view of the foregoing, it is apparent that a
serious need exists for a different route of delivery of
calcitonin to patients suffering from conditions that require
prolonged calcitonin therapy.

Nasal preparations are known in the prior art.
Generally, nasal preparations comprise an oil-in-water or
10 water-in-oil emulsion or an oily solvent base suitable for
use on the mucous membranes, such as mineral or vegetable
oils and fatty acid esters and one or more chemicals which
are soluble in the base. Such preparations usually contain
one or more active drugs intended to alleviate or mitigate a
15 condition in the body by their adsorption into the blood
stream through the mucous membrane of the nose.

While small molecules such as propranolol are
efficiently absorbed intranasally, large molecules such as
calcitonin show little if any absorption. The purpose of
20 this invention is to find agents capable of increasing the
bioavailability of calcitonin so that cost of therapy is
reasonable. The prior art has also recognized that the nasal
absorption of certain drugs may be facilitated by the use of
surfactants in such nasal preparation. For example, insulin
25 and polypeptides were found to have an improved absorption
rate when used in a solution containing a surfactant.

30

35

0115627

1 It has now been found that hypercalcemia, Paget's
disease and other disorders of bone metabolism can be
advantageously treated by intranasal application of
calcitonin contain in a nasal preparation having an
5 absorption promoter and a buffer as essential ingredients.
Such preparations possess enhanced absorption across the
nasal mucosa when applied intranasally, but causes no
irritation or discomfort on extended use.

10 The present invention relates to a method for the
treatment of a mammal suffering from a disorder characterized
by high serum calcium which comprises intranasal application
of a nasal preparation containing a peptide having calcitonin
activity and an absorption promoting agent to effect control
of said disorders by transepithelial action.

15 According to the invention, calcitonin is
intranasally administered to a mammal via a novel dosage
form, such as a solution, ointment, or gel.

20 Calcitonin is a peptide hormone of 32 amino acids
with a disulfide bond at 1-7 in the amino terminus of the
molecule. These first seven amino acids with the disulfide
bond seem essential for activity and this sequence is
preserved from species to species. Calcitonin, as used
herein, means not only peptides having a structure
corresponding to one of the naturally occurring hormones, and
25 which may be naturally or synthetically produced, but also
related peptides having calcitonin activity.

30 The amount of calcitonin contained in the
preparation of the present invention may vary according to
various parameters, such as the nature of the preparation,

1 the particular kind or activity of calcitonin employed and
the condition or ailment to be treated with the preparations.
In general, the concentrations are somewhat higher than those
found in compositions for the systemic administration of
5 calcitonin. It has been found that a concentration level of
1 to 150 micrograms per ml and preferably 2 to 30 micrograms
per ml achieve the desired result. The levels of
administration of calcitonin also vary somewhat from those
used systemically. In the case of human patients, for
10 example, amounts of from 0.7 to 70 micrograms, particularly
from 1 to 25 micrograms, are usually appropriate for single
dosages given and repeated as often as the physician finds it
necessary and such dosages correspond generally to about 0.01
to 1 micrograms, and particularly 0.03 to 0.35 micrograms,
15 per kilogram of body weight. (The above concentration and
dosage levels of calcitonin apply to calcitonin with a
potency of about 4000 International Units per mg and may be
adjusted pro rata for calcitonin of other potencies.)

The diluent base or vehicle used in accordance with
20 the present invention may be non-aqueous or aqueous. In the
former case the group of diluents is the physiologically
acceptable polar solvents. Preferred compounds of this type
are those with which it is possible to make a solution of
adequate concentration of dissolved calcitonin. Examples of
25 these compounds include dimethylsulphoxide, dimethyl
foramide, dimethylauramide, polyhydroxy alcohols, vegetable
and mineral oils. If desired, such non-aqueous media may be
mixed with water to form the diluent of the preparation.

30

35

1 However, the degree of physiological acceptability of the
non-aqueous diluents is generally less than that of aqueous
media and the preferred diluent is therefore water without
the addition of organic solvents.

5 In the preparations of the present invention,
calcitonin is used in combination with an absorption
promoter. Such absorption promoters include the
physiologically acceptable surface active agents. The amount
of such an agent may be in the range from about 0.01 to about
10 10% w/v or higher and preferably about 0.05 to about 1.0%
w/v, the amount depending on the specific surfactant used.
The amount is generally kept as low as possible since above a
certain level no further enhancement of absorption can be
achieved and also too high of a surfactant level may cause
15 irritation of the nasal mucosa. Such surface active agents
include:

- a. Bile salts, such as sodium taurocholate, sodium cholate,
sodium deoxycholate and sodium glycholate;
- 20 b. Cationics, such as the long chain amine condensates with
ethylene oxide and quaternary ammonium compounds, for example
cetyl trimethyl ammonium bromide and dodecyl dimethyl
ammonium bromide;
- c. Anionics, such as alkylbenzenesulfonates,
N-acyl-n-alkyltaurates, α -olefin sulfonates, sulfated
25 linear primary alcohols and sulfated polyoxyethylenated
straight-chain alcohols;
- d. Nonionics, such as polyoxyethylenated alkylphenols,
polyoxyethylenated straight chain alcohols, long chain
carboxylic acid esters including glycerol ester of natural
30 fatty acids, propylene glycol, sorbitol, and
polyoxyethylenated sorbitol esters;

- 1 e. Amphoterics, such as imidazoline carboxylates,
sulfonates and the like; and
f. Phospholipids, such as phosphatidyl choline and the like.

5 The preparations of the present invention
preferably contain a phosphate or acetate buffer in the range
of 0.01 M to 0.5 M and preferably in the range of 0.05 M to
0.2 M. This concentration was found effective to provide
stability of the dissolved calcitonin in the diluent base or
vehicle.

10 The preparations of the present invention may also
contain other additives, such antioxidants, stabilizers,
tonicity adjusters, viscosity builders, preservatives, and
the like. The concentration of these additives may vary
according to the particular additive used and the desired
15 result sought. In general, the concentrations for these
additives will be in the range as follows:

	<u>Additives</u>	<u>% W/V</u>
	Antioxidants	0.01 - 0.2
	Stabilizers	0.01 - 2.0
20	Tonicity Adjuster	0.01 - 0.5
	Viscosity Builders	0.1 - 2.0
	Preservatives	0.001 - 2.0

25 While the use of the kind and concentration of
additives will be well within the ability of the skilled
artisan, the following will serve as illustration for two
additives generally used in pharmaceutical preparations
intended for similar purposes.

30

35

0115627

1	<u>Preservatives</u>	<u>% W/V</u>
	Benzalkonium chloride	0.004 - 0.02
	Disodium Ethylene	
	Diamine Tetraacetate	0.01 - 0.2
5	Thimerosal	0.001 - 0.01
	Chlorobutanol	0.5 - 1.0
	Methyl and/or Propyl	
	Paraben	0.01 - 0.2
	Phenethyl Alcohol	0.25 - 0.75
10	Cyclohexedine	0.01 - 0.1
	<u>Viscosity Agents</u>	<u>% W/V</u>
	Methyl Cellulose	0.1 - 2.0
	Hydroxyethyl Cellulose	0.1 - 2.0
15	Hydroxypropyl Cellulose	0.1 - 2.0
	Polyvinylprrolidone	0.5 - 2.0

20 In preparing the formulations of the present invention, calcitonin is dissolved in the vehicle or diluent after which the additional ingredients are added in accordance with customary formulation procedures known in the pharmaceutical industry.

25 Examples of typical intranasal formulations are set forth below. However, it is to be understood that these examples are given by way of illustration only and are not to be construed as limiting the invention either in spirit or in scope as many modifications will be apparent to those skilled in the art.

30

35

1	<u>EXAMPLE 1</u>	<u>% W/V</u>
	Calcitonin	0.009
5	Sodium Taurocholate	0.5
	Gelatin	1.0
	Purified Water Q.S.	100
10	<u>EXAMPLE 2</u>	<u>% W/V</u>
	Calcitonin	0.009
	Miranol C2M	1.0
	Gelatin	1.0
15	Purified Water Q.S.	100
	<u>EXAMPLE 3</u>	<u>% W/V</u>
	Calcitonin	0.009
20	Miranol C2M	0.05
	Sodium Acetate .3H ₂ O	1.36
	Acetic Acid	0.6
	Purified Water Q.S.	100
25	<u>EXAMPLE 4</u>	<u>% W/V</u>
	Calcitonin	0.009
	Polysorbate 80	1.0
30	Sodium Acetate .3H ₂ O	1.36
	Acetic Acid	0.6
	Purified Water Q.S.	100

0115627

1

EXAMPLE 5

% W/V

5

Calcitonin	0.003
Brij 30	1.0
Sodium Acetate .3H ₂ O	1.36
Acetic Acid	0.6
Purified Water Q.S.	100

10

EXAMPLE 6

% W/V

15

Calcitonin	0.009
Myrj 59	1.0
Sodium Acetate	1.36
Acetic Acid	0.6
Purified Water Q.S.	100

EXAMPLE 7

% W/V

20

Calcitonin	0.009
Miranol C2M	1.0
Sodium Phosphate	2.40
Citric Acid	0.34
Thimerasol	0.002
Purified Water Q.W.	100

25

30

35

1	<u>EXAMPLE 8</u>	<u>% W/V</u>
	Calcitonin	0.009
5	Sodium Taurocholate	0.5
	Sodium Acetate .3H ₂ O	1.36
	Acetic Acid	0.6
	Benzalkonium Chloride	0.01
	DiSodium ethylenediamine	
10	tetraacetate	0.1
	Purified Water Q.S.	100
	<u>EXAMPLE 9</u>	<u>% W/V</u>
15	Calcitonin	0.009
	Sodium Taurocholate	0.5
	Sodium Acetate .3H ₂ O	1.36
	Acetic Acid	1.36
	Chlorobutanol	0.1
20	Phenethyl Alcohol	0.2
	Purified Water Q.S.	100
	<u>EXAMPLE 10</u>	<u>% W/V</u>
25	Calcitonin	0.003
	Miranol C2M	1.0
	Sodium Phosphate	2.40
	Citric Acid	0.34
	Thimerasol	0.002
30	Purified Water Q.S.	100

1 The gelatin used in the above formulations is a
standard hydro lipid animal gelatin prepared for
pharmaceutical use and routinely used as a diluent for
peptides.

5 According to the present invention, it has been
found that calcitonin can be administered intranasally from a
vehicle containing absorption promoters with results
considerably superior to those obtained with the
administration of calcitonin without absorption promoters.
10 The following studies were undertaken to examine the
bioavailability of calcitonin from the formulations of the
present invention, dependency of intranasal absorption of
calcitonin on the level of absorption promoters and stability
of calcitonin in the presence of absorption promoters.

15 PROTOCOL

Male rats weighing 150-250 g were weighed and
anesthetized with sodium pentobarbital, 50/mg/kg. by
intraperitoneal injection. Once anesthetized the
nasopalatine process was occluded with glue. The animals
20 were randomly placed into groups of 5-7 rats with the number
of groups being dependent upon the number of intranasal
formulations to be tested. Supplemental pentobarbital
anesthesia was administered as necessary throughout the
study.

25 Prior to administration of the test material, blood
was collected by cardiac puncture using a 25G 5/8" needle.
Fifty (50) microliters of the salmon calcitonin-containing
surfactant solution was then instilled into the nasal septum
using polyethylene tubing (PE 20, Peterson Technics, Monmouth
30 Junction, N.J.) connected to a 1 ml syringe; the tubing was
inserted about 1 cm into the nasal septum. One and three

0115627

1 hours after nasal instillation, blood was again collected by
cardiac puncture.

Biochemical Analysis

5 Blood samples were allowed to clot at room
temperature and were then refrigerated for 30-60 minutes to
provide maximum clot retraction. The samples were
centrifuged at 4°C., 5000 rpm for 10 minutes (Beckman Model
J2-21 Centrifuge, Beckman Instruments, Palo Alto, CA). Serum
calcium was quantitated using a Calcette (Model 4008,
10 Precision Systems, Sudbury, MA).

Data Analysis

Serum calcium values at 0, 1 and 3 hours were
expressed as mean \pm standard deviation. In addition, the
absolute change and the percent change from the pretreatment
15 (0 time) value at 1 and 3 hours was also calculated.
Statistical analysis consisted of comparison of the serum
calcium values at 0 and 1 hour, 0 and 3 hours, and 1 and 3
hours using a t test.

20

25

30

35

0115627

1

EXAMPLE 11

This example illustrates decrease in serum calcium in blood samples obtained in accordance with the above protocol when: a. calcitonin is administered alone;
5 b. calcitonin is administered in formulations containing various absorption promoters; and c. no calcitonin is present in the formulations.

Table 1 shows the result obtained.

10

15

20

25

30

35

0115627

TABLE I

Calcitonin U/kg body weight vehicle/surfactant	0 hour mg/dl	TIME AFTER DOSE		3 hour mg/dl	% decrease
		1 hour mg/dl	% decr.		
2U 1% gel -	8.8	9.5	NONE	9.9	NONE
5U 1% gel -	8.5	7.9	7.1	9.5	NONE
10U 1% gel -	9.2	7.6	17.4	9.7	NONE
10U .1M Acetate -	8.8	6.3	28.4	9.0	NONE
- 1% gel 1% Miranol C2M(1)	8.9	8.8	NONE	9.2	NONE
- 1% gel 1% Taurocholate	9.1	9.5	NONE	9.8	NONE
3U 1% gel 1% Miranol	8.9	6.7	24.7	7.6	14.6
C2M(1)	8.8	6.5	26.1	8.5	3.4
3U 0.1M Acet. 1% Miranol	8.7	6.8	21.8	8.9	2.3
C2M(1)	8.7	6.8	21.8	8.9	2.3
10U 1% gel 1% Miranol	9.5	6.1	35.8	8.8	7.4
C2M(1)	9.1	7.5	17.6	6.6	27.5
10U 0.1M Acet. 1% Miranol	8.9	7.1	20.2	7.1	20.2
C2M(1)	9.3	6.1	34.4	6.5	30.1
3U 1% gel 1% Taurocholate	9.2	6.8	26.1	8.4	8.7
10U 1% gel 1% Taurocholate	9.1	7.0	23.1	6.4	29.6
10U 1% gel 1% Taurocholate	9.3	7.1	23.7	6.3	32.3
10U 0.1M Acet. 1%	8.6	6.1	29.1	5.9	31.4
Taurocholate	9.1	6.5	28.6	5.7	37.4
3U 1% gel 1% Tween 80	8.3	6.2	25.3	8.7	NONE
(Polysorbate 80)	8.9	7.1	20.2	9.2	NONE

(1) Dicarboxylated fatty imidazoline or dicarboxylic coconut derivative,

TABLE I (Cont'd.)

Calcitonin U/kg body weight vehicle/surfactant	0 hour mg/dl	TIME AFTER DOSE		3 hour mg/dl	% decrease
		1 hour mg/dl	% decr.		
10U 1% gel 1% Tween 80 (Polysorbate)	8.7	6.6	24.2	7.3	16.1
3U 1% gel 0.5% Benzal- konium Chloride	8.9	6.7	24.7	8.4	5.6
	8.7	5.9	32.2	6.3	27.6
10U 1% gel 0.5% Benzal- konium Chloride	8.9	6.5	26.9	9.0	NONE
	8.5	7.2	15.3	7.9	7.1
3U 1% gel 1% Saponin (Sapogin Glycoside)	9.0	6.0	33.3	6.2	31.0
	8.6	7.3	15.1	7.3	15.1
10U .1M Acet. 1% NaL Saf	8.7	6.5	25.9	8.1	6.9
10U .1M Acet. 1% Brij 30	8.7	6.5	25.9	6.5	25.9
(Polyoxyethylene (4) lauryl ether)					
10U .1M Acet. 1% Myrj 59	8.5	6.2	27.1	8.4	1.2
(Polyoxyethylene (100) Stearate)					
10U .1M Acet. 1% Tween 80	8.7	7.5	13.8	7.1	18.4
10U .1M Acet. 1% Aer OT	9.1	6.6	27.5	7.6	16.5
(Sodium dioctyl sulfosuccinate)					

0115627

1

EXAMPLE 12

This example illustrates that the enhancement of intranasal absorption depends on the level of absorption promoter present in the formulation.

5

Table II shows the result obtained.

10

15

20

25

30

35

0115627

TABLE II

10U Calcitonin/kilo in 0.1M Acetate with	0 hour mg/dl	1 hour mg/dl	3 hour mg/dl	3 hour %
1% Taurocholate	9.1	6.5	5.7	37.4
0.5%	9.0	6.1	7.5	16.6
0.25%	9.1	6.8	7.4	18.2
0.1%	8.9	6.5	8.3	6.7
0.05%	9.0	7.6	8.7	3.3

10U calcitonin/kilo
in 0.1M Acetate with

1% Miranol C2M (dicarboxylic coconut derivative, sodium salt)
0.5%
0.25%
0.1%
0.5%

0115627

1

EXAMPLE 13

This example illustrates that calcitonin maintains its activity level in the formulations of the present invention on storage at room temperatures.

5

Table III shows the results obtained.

10

15

20

25

30

35

0115527

TABLE III

10U calcitonin in 1% gel with 1% Miranol C2M			
	0 hour mg/dl	1 hour mg/dl	3 hour mg/dl
initial	8.9	7.1	7.1
2 wks @ RT	9.1	20.2	20.2
4 wks @ RT	9.1	20.9	29.7
10U calcitonin in 1% gel with 1% Tween 80 (Polysorbate 80)		34.1	24.2
initial	8.9	6.7	8.4
2 wks @ RT	8.8	24.7	5.6
4 wks @ RT	8.8	23.9	8.3
		28.4	6.7
			23.9

0115627

1 What is claimed is:

1. A pharmaceutical composition for the treatment of disorders of bone metabolism which comprises an aqueous or non-aqueous medium suitable for intranasal administration and containing a therapeutically effective amount of calcitonin and a surface active agent.

2. The pharmaceutical composition of claim 1 further comprising a buffer.

3. The pharmaceutical composition of claim 2 wherein said buffer is from 0.01 to 0.5M.

4. The pharmaceutical composition of any of claims 1-3 further comprising an antioxidant, stabilizer, tonicity adjuster, viscosity builder, or a preservative.

5. The pharmaceutical composition of any of claims 1-4 wherein said medium contains from about 5 to about 150 micrograms calcitonin per ml of said aqueous medium.

6. The pharmaceutical composition of any of claims 1-5 containing from about 0.01 to about 10% w/v of the surface active agent.

7. The pharmaceutical composition of claim 2 wherein said buffer is a phosphate buffer.

8. The pharmaceutical composition of claim 2 wherein said buffer is an acetate buffer.

9. The pharmaceutical composition of any of claims 1-8 wherein said aqueous medium is a gel.

10. The pharmaceutical composition of any of claims 1-9 wherein said surface active agent is a dicarboxylated fatty imidazoline or sodium taurocholate, or a benzalkonium chloride.

30

35



DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			EP 83113070.3
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int. Cl. 7)
A	<p><u>US - A - 4 241 051</u> (CHRISTIE et al.)</p> <p>* Claims 3,4,5,7-10; column 1, line 45 - column 4, line 46 *</p> <p>--</p>	1,6	A 61 K 37/02
A	<p><u>GB - A - 1 548 984</u> (CIBA-GEIGY AG)</p> <p>* Claims, especially claim 5; page 1, line 9 - page 3, line 66 *</p> <p>--</p>	1,2,5	
A	<p><u>DE - A1 - 2 254 061</u> (HOECHST AG)</p> <p>* Claim 1,4; pages 1,2 *</p> <p>----</p>		
			TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int. Cl. 7)
			A 61 K 37/00
The present search report has been drawn up for all claims			
Place of search VIENNA		Date of completion of the search 30-03-1984	Examiner STÖCKLMAYER
<p>CATEGORY OF CITED DOCUMENTS</p> <p>X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document</p> <p>T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons & : member of the same patent family, corresponding document</p>			